延胡索組織培養之大量繁殖技術

農試所農藝組 陳威臣 蕭翌柱 夏奇鈮

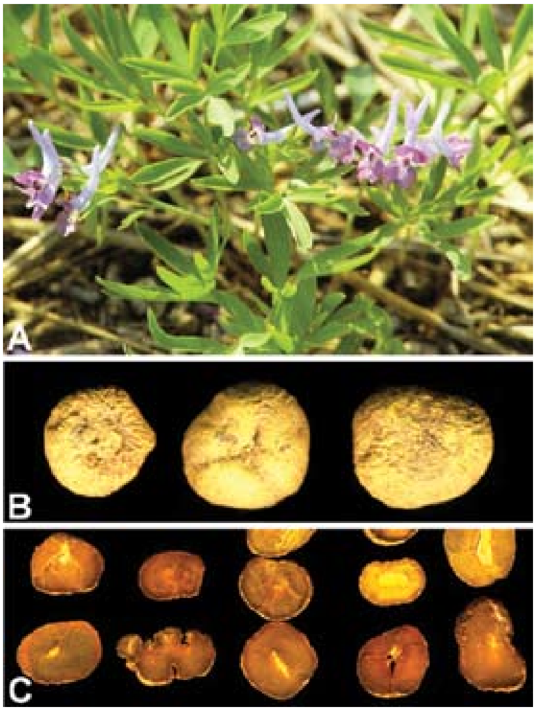
植物保護

一、前言

延胡索(Yan-Hu-Suo)列為神農本草草部中品，自古即為重要藥材，其性味辛苦，溫入肝、胃，具有活血化瘀與鎮痛等功效。延胡索含有二十餘種具有生物活性之生物鹼，其中如延胡索乙素(tetrahydropalmatine)、紫堇鹼(corydaline)、小蘗鹼(berberine)、氫化小蘗鹼(canadine)、去氫紫堇鹼(dehydrocorydaline)與原鴉片鹼(protopine)等均為重要之藥用成分；現代藥理實驗則證實延胡索具有鎮靜、止痛、安眠、肌肉鬆弛、降血壓、降溫、抗癲癇、抗菌、擴張支氣管及治療冠心病等作用。

1990年版中國藥典所收錄延胡索正品為紫堇科(Fumariaceae)、紫堇屬多年生草本植物 *Corydalis yanhusuo* W. T. WANG，藥用部位為乾燥塊莖，其主要產地分佈於浙江、安徽、江蘇與山東等地，臺灣並無原植物分佈，藥材與飲片皆仰賴大量進口以供市場所需(圖一)。近年來因藥材原生棲地環境變化與人為大量採摘，野生藥材資源瀕臨枯竭，而漸有利用人工栽培供給所需；然人工栽培亦面臨許多問題，例如延胡索因利用塊莖繁殖栽培易遭受真菌類疾病侵襲，不只產量減少且影響藥材品質；此外更發現栽培品已被有機氯農藥與重金屬污染，因此為確保本土延胡索藥材來源優質安全及無虞匱乏，開發延胡索組織培養大量繁殖種苗技術有其必要性。

臺灣本土或外來藥材組培繁殖技術在農業試驗所多年努力下，已獲得相當可觀之成果，包括臺灣白芷、臺灣龍膽、臺灣金線連、三島柴胡、丹參、半夏、桔梗、當歸、膜莢黃耆與延胡索等三十餘種重要藥用植物均已成功大量繁殖。本文將概略介紹延胡索擬胚化培養方式，藉由體胚快



圖一、延胡索(*Corydalis yanhusuo*)原植物(A)、藥材塊莖(B)與飲片(C)。

作者：陳助理研究員威臣
連絡電話：04-23302301-109

速大量繁殖種苗與塊莖，希望此項技術能有助於開發延胡索成為臺灣重要生藥資源，未來量產高品質之延胡索藥材供醫藥市場所需。

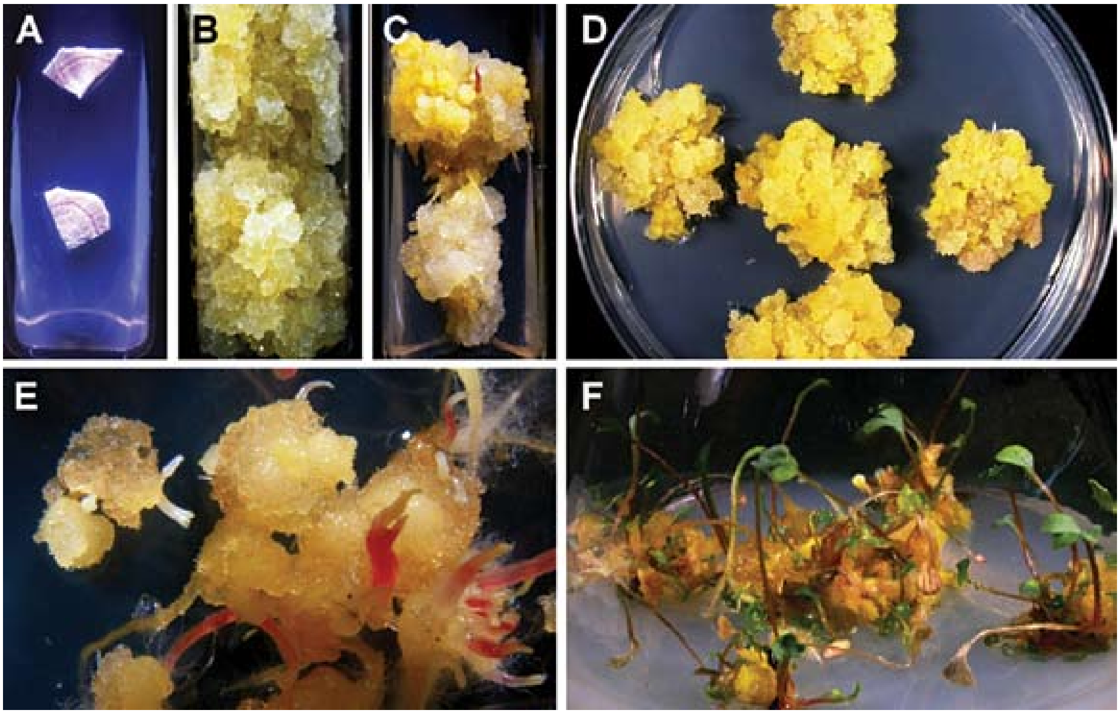
二、組織培養大量繁殖延胡索 - 體胚誘導與體胚苗形成

利用延胡索塊莖切片接種於含有苯氨基嘌呤(6-benzylaminopurine, BA)與2,4-二氯苯氧乙酸(2,4-dichlorophenoxy acetic acid, 2,4-D)組合之MS基本培養基中，在黑暗環境下癒合組織誘導率可達100 %。繼續將癒合組織繼代培養於含有相同植物生長調節劑組合之MS培養基，在培養4-5週後鮮重可增達8-10倍。如將上述癒合組織置於光照下，在含有不同濃度細胞分裂素(cytokinins)之MS液態培養基中培養，二星期後即可誘得體胚(somatic embryo)，顯示此癒合組織具有分化成體胚之能力，稱之為擬胚化癒合組織(embryogenic callus)。

光照環境培養會抑制癒合組織之增殖速度，但可誘使擬胚化癒合組織形成，產生肉眼可見的紅色點狀物，此紅點則具有分化為體胚的趨勢；但若是經過長期繼代培養之癒合組織則不利於體胚之分化。此外，將擬胚化癒合組織培養於含有離層酸(abscisic acid, ABA)之MS基本培養基，可提高正常體胚苗分化之比率；將體胚苗移至添加少量激勃素(gibberellins, GA3)之MS基本培養基，則體胚苗轉化植株之比率可高達 80%。在誘導體胚苗形成培養過程中，於子葉基部與塊莖連接處可發現大量二次體胚(secondary somatic embryo)形成(圖二)，可進一步利用此擬胚化癒合組織繼續大量繁殖體胚及體胚苗(somatic seedling)，達到大量繁殖種苗之目的(圖三)。

三、延胡索塊莖養成與植株馴化

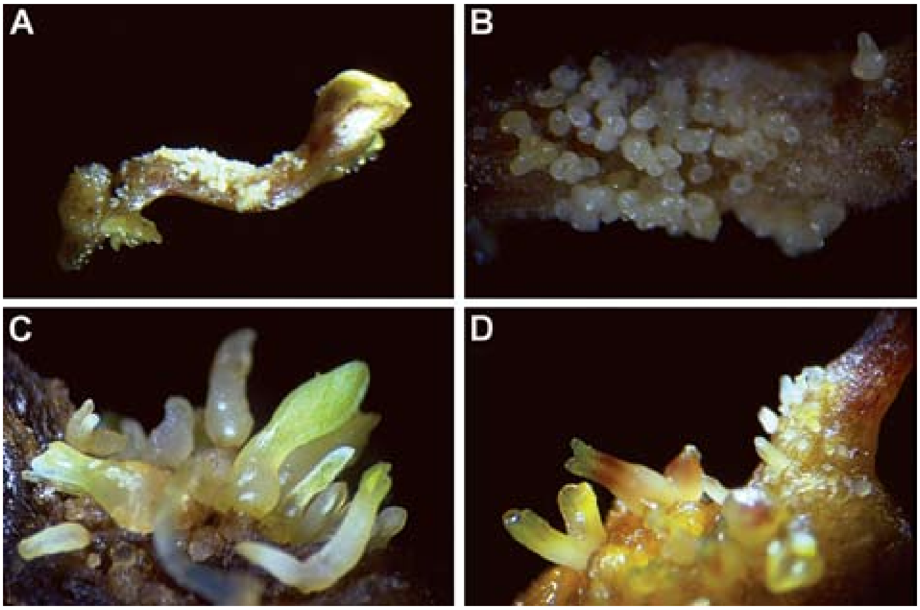
藉由植物生長調節劑與光照處理的組合應用，不但可促進擬胚化癒合組織的分化，更可誘導塊莖之形成，將癒合組織培養於添加奈乙酸(α-naphthaleacetic



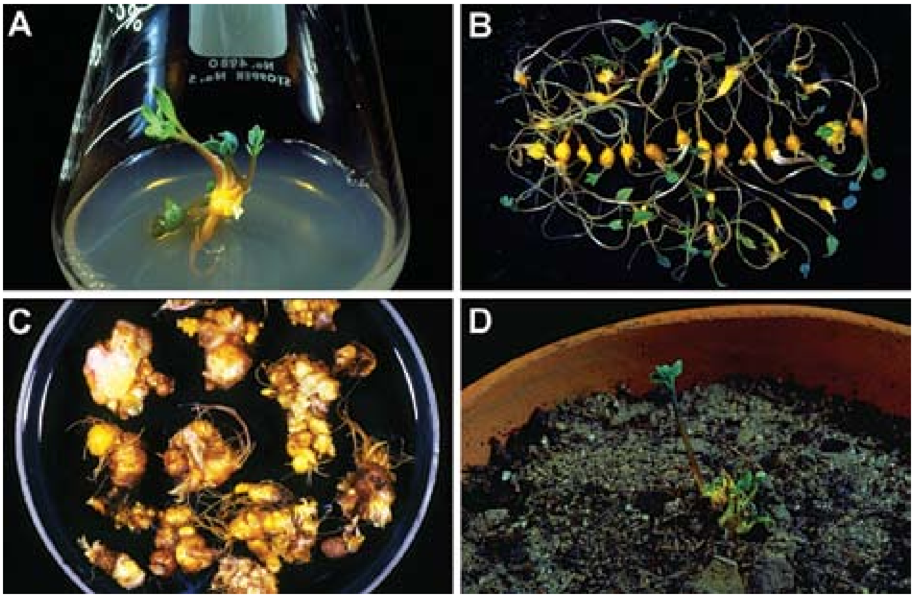
圖二、延胡索新鮮塊莖切片(A)、癒合組織(B)、擬胚化癒合組織(C)、擬胚化癒合組織大量繁殖(D)、體胚與體胚苗形成(E)與體胚苗生長之情形(F)。

acid, NAA)與塞苯隆(thidiazuron, TDZ)生長調節劑組合之MS基本培養基中，於光照環境下培養，可促使癒合組織產生體胚分化現象，且促進延胡索小塊莖的形成。此外，在照光環境下藉由吲哚乙酸(indole-3-acetic acid, IAA)或吲哚丁酸(indole-3-butyric acid, IBA)之應用，對塊莖形成有最佳的效果，尤以IBA處理產生塊莖數達28個的效果最佳。若將體胚苗接種於不含生長調節劑之MS基本培養基，在培養 1-2 個月後亦可獲得具有小塊莖形成之植株，若將此植株繼代培養於相同配方之新鮮培養基，經培養2-4個月後即可形成直徑約1cm之小塊莖。將培養4-6個月已形成較大塊莖之組培苗，移植於經高溫高壓除菌後之泥炭土與蛭石(1 : 1)混合之栽培介質，置於照光約12-14小時之溫室保濕環境下，經二個月後仍有高達 82%存活率(圖四)。

綜合以上研究結果顯示，利用兩階段培養之策略，先藉由NAA配合TDZ之處理組合增殖癒合組織，而後於光照培養條件以IBA誘導塊莖大量形成，由於塊莖較體胚苗在運輸貯藏上皆較為有利，未來



圖三、延胡索體胚培養之二次體胚發生之情形。



圖四、延胡索具有塊莖之體胚苗(A)、具有塊莖之大量體胚苗(B)、瓶內養成之塊莖(C)與體胚苗馴化成活植株(D)。

植物保護

塊莖之養成更可藉由生物反應器大量培養，對於商業化種苗大量生產之應用將更為可行。

四、結語

傳統藥用植物之開發利用攸關許多發展中國家人民之健康至鉅，即使現代沿用之各式藥品也有多種是由傳統的藥材提煉而來，目前更有許多藥用植物正被進行現代化之藥效及藥理作用評估，已做為新藥開發的來源。然而，現今已有大量藥用植物因人為破壞或過度採摘，導至族群銳減甚至瀕臨滅絕，利用植物組織培養技術可有效進行種原保育及快速繁殖珍稀藥用植物，對於重要瀕危藥用植物之保育、開發與利用具有相當必要性。農委會農業試驗所多年來致力於中草藥之種原保存及開發利用，主要在鑑別正確基原植物與掌握自有藥材來源，並且進行組織培養大量繁殖優良藥用植物種苗之研究，以確保後續產製品品質，提供國人日常保健所需。目前農試所即以「利用植物生長調節素加速延胡索塊莖組織生長及繁殖之培養方法」為題申請發明專利，業經核准並於2005年1月21日正式公告授予發明專利。此一技術首先建立延胡索之擬胚化癒合組織，並且藉以誘導體胚與體胚苗形成，而後利用體胚苗進一步發育為植株與小塊莖，是一種快速種苗繁殖與瓶內塊莖養成之獨特技術。此一發明案的通過亦為近年來中草藥界種苗繁殖重要的研發成果之一，給予該領域研究人員相當大的鼓舞作用，後續所需努力方向則是建立一套可供商業化種苗與塊莖生產的標準作業程序，期能將延胡索開發為臺灣重要之生藥資源，量產延胡索藥材供應醫藥市場所需。

致謝：作者感謝朝陽科技大學蔡新聲教授與中國醫藥大學郭昭麟副教授，提供部分延胡索相關照片，謹此一併致謝。

五、參考文獻

張麗麗、張麗艷、楊玉琴。2004。貴陽醫學院學報 29：338-339。

許翔鴻、王崢濤、余國奠、阮碧芳、李軍。2002。中國藥科大學學報 33：483-486。

許翔鴻、余國奠、王崢濤。2004。中國中藥雜誌 29：399-401。

劉棠瑞、楊國禎。1996。紫堇科紫堇屬，臺灣植物誌(Vol. 2)。pp. 726-733。國立臺灣大學植物學系出版。

蔡新聲。1999。藥用植物之開發與利用研討會論文集。pp. 113-124。臺灣省農業試驗所。

Kamigauchi, M. and K. Iwasa. 1994. Biotechnol. Agric. For. 26：93-105.

Kuo, C. L., A. P. Sagare, S. F. Lo, C. Y. Lee, C. C. Chen and H. S. Tsay. 2002. Plant Physiol. 159: 423-427.

Nalawada S. M., A. P. Sagare, C. Y. Lee, C. L. Kao and H. S. Tsay. 2003. Bot. Bull. Acad. Sin. 44: 79-98.

Sagare, A. P., Y. L. Lee, T. C. Lin, C. C. Chen and H. S. Tsay. 2001. Plant Sci. 160: 139-147.

Tang, W. and G. Eisenbrand. 1992. Chinese Drugs of Plant Origin, Chemistry, Pharmacology, and Use in Traditional and Modern Medicine. pp. 377-393. Springer-Verlag, Berlin.